

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
7. Februar 2002 (07.02.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/09713 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 31/505,
A61P 25/28, 9/10, 25/24, 25/16

15 a, 53797 Lohmar (DE). SCHAUSS, Dagmar [DE/DE];
Stackenbergstr. 15, 42329 Wuppertal (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/08609

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER AKTIENGE-
SELLSCHAFT; 51368 Leverkusen (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
19. Juli 2001 (19.07.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 37 411.5 1. August 2000 (01.08.2000) DE
101 22 893.7 11. Mai 2001 (11.05.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): BAYER AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE];
51368 Leverkusen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BÖSS, Frank-Ger-
hard [DE/DE]; Auf dem Scheidt 29 f, 42115 Wuppertal
(DE). HENDRIX, Martin [DE/DE]; Wolfskaul 8, 51061
Köln (DE). KÖNIG, Gerhard [DE/DE]; Burgmüllerstr.
47, 40235 Düsseldorf (DE). NIEWÖHNER, Ulrich
[DE/DE]; Gartenstr. 3, 42929 Wermelskirchen (DE).
SCHLEMMER, Karl-Heinz [DE/DE]; Wildsteig 22a,
42113 Wuppertal (DE). SCHREIBER, Rudy [DE/DE];
Am Beethovenpark 34, 50935 Köln (DE). VAN DER
STAAY, Franz-Josef [DE/DE]; Matthias-Claudius-Weg

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ,
LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN,
MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,
SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU,
ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

WO 02/09713 A2

(54) Title: SELECTIVE PDE 2 INHIBITORS, USED AS MEDICAMENTS FOR IMPROVING COGNITION

(54) Bezeichnung: SELEKTIVE PDE 2-INHIBITOREN ALS ARZNEIMITTEL ZUR VERBESSERUNG DER WAHRNEH-
MUNG

(57) Abstract: The invention relates to the use of selective phosphodiesterase 2, (PDE 2), inhibitors for producing medicaments to
improve cognition, powers of concentration, learning capability and/or memory retention.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von selektiven Phosphodiesterase 2 (PDE 2) -Inhibitoren zur Her-
stellung von Arzneimitteln zur Verbesserung von Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung und/oder Gedächtnisleistung.

Selektive PDE 2-Inhibitoren als Arzneimittel zur Verbesserung der Wahrnehmung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von selektiven Phosphodiesterase 2 (PDE 2)
5 -Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung von Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung und/oder Gedächtnisleistung.

Die zelluläre Aktivierung von Adenylat- bzw. Guanylatzyklasen bewirkt die Zyklisierung von ATP bzw. GTP zu 5'-3' zyklischem Adenosin Monophosphat (cAMP)
10 bzw. 5'-3' zyklischem Guanosin monophosphat (cGMP). Diese zyklischen Nukleotide (cAMP und cGMP) sind wichtige second messenger und spielen daher eine zentrale Rolle in den zellulären Signaltransduktionskaskaden. Beide aktivieren unter anderem, aber nicht ausschließlich, jeweils wieder Protein Kinasen. Die von cAMP aktivierte Protein Kinase wird Protein Kinase A (PKA) genannt, die von cGMP
15 aktivierte Protein Kinase wird Protein Kinase G (PKG) genannt (für eine Übersicht: siehe Stryer, L., Biochemistry, 4. Auflage, Freeman, New York, 1995). Aktivierte PKA bzw. PKG können wiederum eine Reihe zellulärer Effektorproteine phosphorylieren (z.B. Ionenkanäle, G-Protein gekoppelte Rezeptoren, Strukturproteine). Auf diese Weise können die second messengers cAMP und cGMP die unterschied-
20 lichsten physiologischen Vorgänge in den verschiedensten Organen kontrollieren. Die zyklischen Nukleotide können aber auch direkt auf Effektormoleküle wirken. So ist z.B. bekannt, dass cGMP direkt auf Ionenkanäle wirken kann und hiermit die zelluläre Ionenkonzentration beeinflussen kann (für eine Übersicht: Kandel et al. in 'Principles of Neural Science', 1991, 3. Auflage, Elsevier, Kapitel 28, S. 403 – 408.)
25 Ein Kontrollmechanismus, um die Aktivität von cAMP und cGMP und damit diese physiologischen Vorgänge wiederum zu steuern, sind die Phosphodiesterasen (PDE). PDEs hydrolysieren die zyklischen Monophosphate zu den inaktiven Monophosphaten AMP und GMP. Es sind mittlerweile mindestens 21 PDE Gene beschrieben (*Exp. Opin. Investig. Drugs* 2000, 9, 1354-3784). Diese 21 PDE Gene
30 lassen sich aufgrund ihrer Sequenzhomologie in 11 PDE Familien einteilen (Nomenklatur Vorschlag siehe: www.hs.washington.edu). Einzelne PDE Gene

innerhalb einer Familie werden durch Buchstaben unterschieden (z.B. PDE1A und PDE1B). Falls noch unterschiedliche Splice Varianten innerhalb eines Genes vorkommen, wird dies dann durch eine zusätzliche Nummerierung nach dem Buchstaben angegeben (z.B. PDE1A1). Das ursprünglich als „cGMP stimulierte PDE“ und später als PDE2 bezeichnete Enzym wurde erstmals 1982 aus Rinderherzen und Rindernebenniere biochemisch isoliert und gereinigt (Martins et al. *J. Biol. Chem.* 1982, 257, 1973-1979). Die Besonderheit dieser Phosphodiesterase liegt in ihrer positiven kooperativen Kinetik bzgl. des Substrates cGMP. Es wurde postuliert, dass geringe Mengen von cGMP an die sogenannte cGMP-bindende Domäne binden und dadurch eine Aktivierung des Enzyms bewirken. Hierdurch erhöht sich auch die Affinität der katalytischen Domäne gegenüber cGMP und cAMP (Martins et al. *J. Biol. Chem.* 1982, 257, 1973-1979). Deswegen kann PDE2 durch geringe Mengen von cGMP beide second messenger-Systeme hydrolysieren und dadurch auch kontrollieren.

Durch cGMP stimulierte PDE's wurden auch in anderen verschiedenen Geweben beschrieben. So u.a., aber nicht ausschließlich, in der Leber (Yamamoto et al. *J. Biol. Chem.* 1983, 258, 12526-12533.) und in Thrombozyten (Grant et al. *Thromb Res.* 1990, 59, 105-119.). Eine membrangebundene Form der cGMP-stimulierten PDE wurde aus Kaninchenhirn isoliert (Whalin et al. *Biochim. Biophys. Acta.* 1988, 972, 79-94.). Kloniert wurde die cDNA von PDE2 erstmals aus Rind und Ratte (Sonnenburg et al. *J. Biol. Chem.* 1991, 266, 17655-17661.; Tanaka et al. *Second Messengers Phosphoproteins.* 1991, 13, 87-98.). Sonnenburg et al. zeigte auch die starke Expression der PDE2-mRNA in der Gehirnrinde (cortex), den Basalganglien sowie im Hippocampus. Die Sequenz der menschlichen Isoform PDE2A3 Sequenz (Gen Bank Acc. No. U67733) wurde von Rosman et al. *Gene.* 1997, 191, 89-95. berichtet. Von den untersuchten Geweben wurde hierin die Expression von PDE2A stark in Gehirn und Herz und schwächer in Leber, Skelettmuskel, Niere und Pankreas nachgewiesen.

Als spezifischer Inhibitor der PDE2 wurde bisher nur das erythro-9-(2-Hydroxy-3-nonyl)-adenin (EHNA; $IC_{50}=1\mu M$) beschrieben. Allerdings ist EHNA auch ein sehr potenter Adenosin Deaminase Inhibitor ($IC_{50}=3nM$) wodurch zellbiologische und *in vivo*-pharmakologische Effekte, die mit EHNA erzeugt wurden, nicht eindeutig interpretiert werden können.

Die EP-A-0 771 799, die WO 98/40384 und die WO 00/12504 beschreiben Purinon-, Allopurinol- bzw. Triazolopyrimidinon-Derivate, deren PDE-inhibitorische Wirkung und ihre Eignung zur Behandlung von bestimmten Gefäßerkrankungen.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass selektive PDE 2-Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung oder Gedächtnisleistung geeignet sind.

Ein PDE 2-Inhibitor im Sinne der Erfindung ist eine Verbindung, die humane PDE 2 unter den unten angegebenen Bedingungen mit einem IC_{50} von weniger als $10\mu M$, bevorzugt weniger als $1\mu M$, besonders bevorzugt weniger als $0,1\mu M$ hemmt.

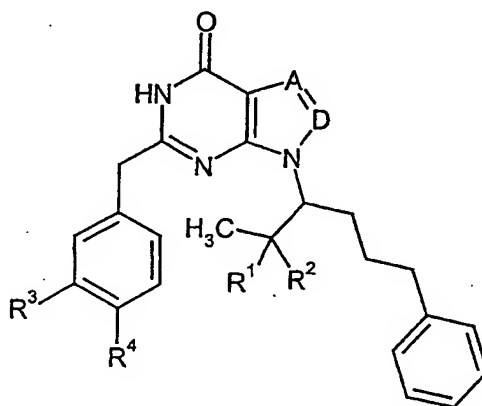
Ein selektiver PDE 2-Inhibitor im Sinne der Erfindung ist eine Verbindung, die humane PDE 2 unter den unten angegebenen Bedingungen stärker hemmt als die humanen cAMP-PDEs 3B, 4B und 7B. Bevorzugt ist IC_{50} (PDE 2)/ IC_{50} (PDE 3B, 4B oder 7B) kleiner als 0,1.

Besonders eignen sich die selektiven PDE 2-Inhibitoren zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung, oder Gedächtnisleistung nach Kognitiven Störungen, wie sie insbesondere bei Situationen/Krankheiten/Syndromen auftreten wie „Mild cognitive impairment“, Altersassoziierte Lern- und Gedächtnisstörungen, Altersassoziierte Gedächtnisverluste, Vaskuläre Demenz, Schädel-Hirn-Trauma, Schlaganfall, Demenz, die nach Schlaganfällen auftritt („post stroke dementia“), post-traumatisches Schädel Hirn Trauma, allgemeine Konzentrationsstörungen, Konzentrationsstörungen in Kindern mit Lern- und Gedächtnisproblemen,

Alzheimersche Krankheit, Demenz mit Lewy-Körperchen, Demenz mit Degeneration
der Frontallappen einschließlich des Pick's Syndroms, Parkinsonsche Krankheit,
Progressive nuclear palsy, Demenz mit corticobasaler Degeneration, Amyotrophe
Lateralsklerose (ALS), Huntingtonsche Krankheit, Multiple Sklerose, Thalamische
5 Degeneration, Creutzfeld-Jacob-Demenz, HIV-Demenz, Schizophrenie mit Demenz
oder Korsakoff-Psychose.

Die Erfindung betrifft bevorzugt die erfindungsgemäße Verwendung von PDE 2-
Inhibitoren der allgemeinen Formel (I),

10



in welcher

15 A=D für N=N, N=CH oder CR⁵=N steht, worin R⁵ Wasserstoff, Methyl, Ethyl
oder Methoxy bedeutet,

R¹ und R² zusammen mit dem angrenzenden Kohlenstoffatom für Hydroxymethylen
oder Carbonyl stehen, und

20 R³ und R⁴ unabhängig voneinander für Methyl, Ethyl, Methoxy, Ethoxy oder einen
Rest der Formel SO₂NR⁶R⁷ stehen,

worin

R^6 und R^7 unabhängig voneinander Wasserstoff, (C_1-C_6) -Alkyl, (C_3-C_7) -Cycloalkyl bedeuten, oder

5 R^6 und R^7 zusammen mit dem benachbarten Stickstoffatom einen Azetidin-1-yl-, Pyrrol-1-yl-, Piperid-1-yl-, Azepin-1-yl, 4-Methyl-piperazin-1-yl- oder Morpholin-1-yl-Rest bilden,

oder eines ihrer Salze.

10 (C_1-C_6) -Alkyl steht im Rahmen der Erfindung für einen geradkettigen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen. Bevorzugt ist ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen. Beispielsweise seien genannt: Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, t-Butyl, n-Pentyl und n-Hexyl.

15 (C_3-C_7) -Cycloalkyl steht im Rahmen der Erfindung für eine Cycloalkylgruppe mit 3 bis 7 Kohlenstoffatomen. Bevorzugt seien genannt: Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl und Cycloheptyl.

20 Die erfindungsgemäßen Stoffe der allgemeinen Formel (I) können auch als Salze vorliegen. Im Rahmen der Erfindung sind physiologisch unbedenkliche Salze bevorzugt.

25 Physiologisch unbedenkliche Salze können Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen mit anorganischen oder organischen Säuren sein. Bevorzugt werden Salze mit anorganischen Säuren, wie beispielsweise Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäure oder Schwefelsäure, oder Salze mit organischen Carbon- oder Sulfonsäuren wie beispielsweise Essigsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Milchsäure, Benzoesäure, oder Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Toluolsulfonsäure oder Naphthalindisulfonsäure.
30

Physiologisch unbedenkliche Salze können ebenso Metall- oder Ammoniumsalze der erfindungsgemäßen Verbindungen sein. Besonders bevorzugt sind Alkalimetallsalze (z.B. Natrium- oder Kaliumsalze), Erdalkalisalze (z.B. Magnesium- oder Calciumsalze), sowie Ammoniumsalze, die abgeleitet sind von Ammoniak oder organischen Amin-
5 Aminen, wie beispielsweise Ethylamin, Di- bzw. Triethylamin, Di- bzw. Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Arginin, Lysin, Ethylendiamin oder 2-Phenylethylamin.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) sind aus der EP-A-0 771 799, der WO
10 98/40384 und der WO 00/12504 bekannt oder können nach dort beschriebenen Verfahren hergestellt werden. Auf die Offenbarung der EP-A-0 771 799, der WO 98/40384 und der WO 00/12504 wird ausdrücklich Bezug genommen.

Der Wirkstoff kann systemisch und/oder lokal wirken. Zu diesem Zweck kann er auf
15 geeignete Weise appliziert werden, wie z.B. oral, parenteral, pulmonal, nasal, sublingual, lingual, buccal, rectal, transdermal, conjunctival, otisch oder als Implantat.

Für diese Applikationswege kann der Wirkstoff in geeigneten Applikationsformen verabreicht werden.

20 Für die orale Applikation eignen sich bekannte, den Wirkstoff schnell und/oder modifiziert abgebende Applikationsformen, wie z.B. Tabletten (nichtüberzogene sowie überzogene Tabletten, z.B. magensaftresistente Überzüge), Kapseln, Dragees, Granulate, Pellets, Pulver, Emulsionen, Suspensionen und Lösungen.

25 Die parenterale Applikation kann unter Umgehung eines Resorptionsschrittes geschehen (intravenös, intraarteriell, intrakardial, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einschaltung einer Resorption (intramuskulär, subcutan, intracutan, percutan, oder intraperitoneal). Für die parenterale Applikation eignen sich als Applikations-
30 formen u.a. Injektions- und Infusionszubereitungen in Form von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Lyophilisaten und sterilen Pulvern.

Für die sonstigen Applikationswege eignen sich z.B. Inhalationsarzneiformen (u.a. Pulverinhalatoren, Nebulizer), Nasentropfen/-lösungen, Sprays; lingual, sublingual oder buccal zu applizierende Tabletten oder Kapseln, Suppositorien, Ohren- und
5 Augenpräparationen, Vaginalkapseln, wässrige Suspensionen (Lotionen, Schüttel-
mixturen), lipophile Suspensionen, Salben, Cremes, Milch, Pasten, Streupuder oder
Implantate.

Die Wirkstoffe können in an sich bekannter Weise in die angeführten Applikations-
10 formen überführt werden. Dies geschieht unter Verwendung inerter nichttoxischer,
pharmazeutisch geeigneter Hilfsstoffe. Hierzu zählen u.a. Trägerstoffe (z.B. mikro-
kristalline Cellulose), Lösungsmittel (z.B. flüssige Polyethylenglycole), Emulgatoren
(z.B. Natriumdodecylsulfat), Dispergiermittel (z.B. Polyvinylpyrrolidon), synthe-
tische und natürliche Biopolymere (z.B. Albumin), Stabilisatoren (z.B. Antioxi-
15 dantien wie Ascorbinsäure), Farbstoffe (z.B. anorganische Pigmente wie Eisenoxide)
oder Geschmacks- und/oder Geruchskorrigentien.

Im allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei parenteraler Applikation
Mengen von etwa 0,001 bis 30 mg/kg, vorzugsweise etwa 0,01 bis 10 mg/kg Körper-
20 gewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen. Bei oraler Applikation
beträgt die Menge etwa 0,01 bis 100 mg/kg, vorzugsweise etwa 0,1 bis 30 mg/kg
Körpergewicht.

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen
25 abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von Körpergewicht, Applikationsweg,
individuellem Verhalten gegenüber dem Wirkstoff, Art der Zubereitung und Zeit-
punkt bzw. Intervall, zu welchem die Applikation erfolgt.

PDE-Inhibition

Die cGMP-stimulierbare PDE 2 wird aus Rindemyokard isoliert. Die Ca^{2+} -Calmodulin-stimulierbare PDE 1 wird aus Schweineaorta, Schweinehirn oder
5 bevorzugt aus Rinderaorta isoliert. Die cGMP-spezifische PDE 5 wird aus Schweinedünndarm, Schweineaorta, humanen Blutplättchen und bevorzugt aus Rinderaorta gewonnen. Die Reinigung erfolgt durch Anionenaustauschchromatographie an MonoQ^R Pharmacia im wesentlichen nach der Methode von Hoey, M; Houslay, M.D.,
10 *Biochem. Pharmacol.* 1990, 40, 193-202 und Lugman et al. *Biochem. Pharmacol.* —1986, 35, 1743-1751.

Die Bestimmung der Enzymaktivität erfolgt in einem Testansatz von 100 µl in 20 mM Tris/HCl-Puffer pH 7,5 der 5 mM MgCl_2 , 0,1 mg/ml Rinderserumalbumin und entweder 800 Bq [^3H]-cAMP oder [^3H]-cGMP enthält. Die Endkonzentration der
15 entsprechenden Nucleotide ist 10^{-6} mol/l. Die Reaktion wird durch Zugabe des Enzyms gestartet, die Enzymmenge ist so bemessen, dass während der Inkubationszeit von 30 min ca. 50 % des Substrates umgesetzt werden. Um die cGMP stimulierbare PDE 2 zu testen, wird als Substrat [^3H]-cAMP verwendet und dem Ansatz 10^{-6} mol/l nicht markiertes cGMP zugesetzt. Um die Ca-Calmodulinabhängige PDE
20 1 zu testen, werden dem Reaktionsansatz noch CaCl_2 1 µM und Calmodulin 0,1 µM zugesetzt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 100 µl Acetonitril, das 1 mM cAMP und 1 mM AMP enthält, gestoppt. 100 µl des Reaktionsansatzes werden auf der HPLC getrennt und die Spaltprodukte "Online" mit einem Durchflussszintillationszähler quantitativ bestimmt. Es wird die Substanzkonzentration gemessen, bei der die
25 Reaktionsgeschwindigkeit um 50 % vermindert ist. Zusätzlich wurde zur Testung der "Phosphodiesterase [^3H] cAMP-SPA enzyme assay" und der "Phosphodiesterase [^3H] cGMP-SPA enzyme assay" der Firma Amersham Life Science verwendet. Der Test wurde nach dem vom Hersteller angegebenen Versuchsprotokoll durchgeführt.

30 Humane rekombinante PDE2 (Rosman et al. *Gene* 1997 191, 89-95), PDE3B (Miki et al. *Genomics* 1996 36, 476-485), PDE4B (Bolger et al. *Mol. Cell. Biol.* 1993 13,

6558-6571) und PDE7B (Hetman et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000 97, 472-476) werden mit Hilfe des pFASTBAC Baculovirus Expressionssystems (GibcoBRL) in Sf9 Zellen exprimiert.

5 Die Bestimmung der Aktivität der Testsubstanzen an humaner rekombinanter PDE2, PDE3B, PDE4B und PDE7B erfolgt mit dem [^3H]cAMP Scintillation Proximity Assay (SPA) Kit (TRKQ7090) von Amersham International (Little Chalfont, England) bzw. an PDE1 und PDE5 mit dem [^3H]cGMP Scintillation Proximity Assay (SPA) Kit (TRKQ7100) von Amersham International (Little Chalfont, England).

10 Testsubstanzen werden in 100 % DMSO gelöst (10 mM), und diese Lösung wird weiter mit H_2O verdünnt (höchste Endkonzentration im Test: $10\mu\text{M}$). Zur Vorstimulation der PDE2 wird cGMP beigelegt (Endkonzentration im Test: 10^{-6} M). Das Enzym wird in PDE Puffer (20mM TRIS/HCl, 5mM MgCl_2 , 0,1 mg/ml Albumin, pH 7,5) verdünnt. In einer 96-Loch Platte (Wallac, 1450-401) werden pro Loch folgende Volumina pipettiert: 10 μl Substanzlösung (beim 100% Wert 10 μl H_2O), 10 μl cGMP (10^{-5} M), 70 μl [^3H]-cAMP Testgemisch (siehe Kit), 10 μl Enzym (beim 0-Wert kein Enzym, stattdessen + 10 μl H_2O) zum Start der Reaktion. Nach 15 min Inkubation bei 30°C wird die Reaktion mit 50 μl SPA-Beadlösung (siehe Kit) gestoppt, die Platte mit einer Folie verschlossen und 30 Sekunden geschüttelt. Nach 20 dem Absetzen der Beads (ca. 15 min) wird die Platte im beta-counter gemessen.

Für die Messung der PDE1 wird Calmodulin 10^{-7} M und CaCl_2 $1\mu\text{M}$ zum Reaktionsansatz zugegeben. Die PDE5 wird mit dem [^3H] cGMP SPA Assay gemessen. Die 25 PDE3B, PDE4B und PDE7B wird mit dem [^3H] cAMP scintillation proximity assay gemessen.

Das verwendete Ausführungsbeispiel 1, 6-(3,4-Dimethoxy-benzyl)-1-[1-(1-hydroxy-ethyl)-4-phenyl-butyl]-3-methyl-1,5-dihydro-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4-on, entspricht 30 dem Beispiel 36 in der WO 98/40384 und wurde nach dem dort beschriebenen Verfahren hergestellt.

Inhibition von PDE-Isoenzymen durch Beispiel 1:

Isoenzym	Species	IC ₅₀ [nM]
PDE1	Rind	200
PDE2	Rind	7
PDE2	human	6
PDE3B	human	> 4000
PDE4B	human	2900
PDE5	human	300
PDE7B	human	1600

5

Erhöhung der intrazellulären neuronalen cGMP-Konzentration in Zellkulturen

PDE 2-Inhibitoren erhöhen die intrazelluläre neuronale cGMP Konzentration nach Vorstimulierung der Guanylatzyklase mit 10^{-4} M Natriumnitroprussid (SNP) in primären Maushirnzellkulturen.

10

Mausembryonen wurden dekapitiert, die Köpfe in Präparationsschalen überführt. Die Kopfhaut und Schädeldecke wurde entfernt, und die freipräparierten Gehirne wurden in eine weitere Petrischale überführt. Mithilfe eines Binokulars und zweier Pinzetten wurde das Großhirn (Cortex) isoliert und mit Eis auf 4°C gekühlt. Diese Präparation und die Vereinzelung der kortikalen Neuronen wurden dann nach einem Standardprotokoll mit dem Papain Dissociationssystem (Worthington Biochemical Corporation, Lakewood, New Jersey 08701, USA) durchgeführt (Huettnner et al. *J. Neurosci.* 1986, 6, 3044-3060.). Die mechanisch vereinzelter Neuronen wurden zu 150.000 Zellen/Loch in 200 µl Neurobasalmedium/Loch (Neurobasal; Gibco/BRL; 2mM L-Glutamin; in Anwesenheit von Penicillin/Streptomycin) 7 Tage in 96 Lochplatten (mit Poly-D Lysin 100µg/ml für 20 min vorbehandelt) unter Standard Bedingungen kultiviert (37°C, 5%CO₂). Nach 7 Tagen wurde das Medium abge-

15

20

nommen und die Zellen mit HBS Puffer (Gibco/BRL) gewaschen. Anschließend wurden je 100µl SNP-Lösung und 100µL von Beispiel 1 (zuvor in 100% DMSO gelöst: 10 mM) in HBS auf die Zellen gegeben, so dass die Endkonzentration von SNP 100 mM und die von Beispiel 1 so lag wie in Figur 1 angegeben und bei 37°C für 20min inkubiert. Danach wurden die Zellen in 200µl Lysispuffer (cGMP Kit code RPN 226; von Amersham Pharmacia Biotech.) lysiert und die cGMP Konzentration nach den Angaben des Herstellers gemessen. Alle Messungen wurden in Triplicaten durchgeführt. Die Statistische Auswertung erfolgte mit Prism Software Version 2.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA USA).

10

Bei paralleler Inkubation von Neuronen mit SNP (einem Stimulator der Guanylatzyklase) und Beispiel 1 zeigte sich bereits ab einer Konzentration von 100nM eine deutliche Erhöhung des intrazellulären cGMP Spiegels (Fig.1).

15 Fig. 1: Intrazelluläre cGMP-Konzentration in primären Maus (E18)-Kortextkulturen (Ordinate) nach Behandlung mit SNP und Beispiel 1 (Abszisse)

Zellen wurden mit 100mM SNP (0) oder mit 100mM SNP und Beispiel 1 (1×10^{-8} M; 5×10^{-8} M; 1×10^{-7} M; 5×10^{-7} M; 1×10^{-6} M) für 20 min behandelt. Danach wurde der intrazelluläre cGMP Spiegel gemessen.

20

Objekt-Wiedererkennungstest

Der Objekt-Wiedererkennungstest ist ein Gedächtnistest. Er misst die Fähigkeit von Ratten (und Mäusen), zwischen bekannten und unbekannten Objekten zu unterscheiden.

25

Der Test wurde wie beschrieben durchgeführt (Blokland et al. *NeuroReport* 1998, 9, 4205-4208; Ennaceur, A., Delacour, J., *Behav. Brain Res.* 1988, 31, 47-59; Ennaceur, A., Meliani, K., *Psychopharmacology* 1992, 109, 321-330; Prickaerts, et al. *Eur. J. Pharmacol.* 1997, 337, 125-136).

30

In einem ersten Durchgang wird eine Ratte in einer ansonsten leeren größeren Beobachtungsarena mit zwei identischen Objekten konfrontiert. Die Ratte wird beide Objekte ausgiebig untersuchen, d.h. beschnüffeln und berühren. In einem zweiten Durchgang, nach einem Intervall von 24 Stunden, wird die Ratte erneut in die Beobachtungsarena gesetzt. Nun ist eines der bekannten Objekte durch ein neues, unbekanntes Objekt ersetzt. Wenn eine Ratte das bekannte Objekt wiedererkennt, wird sie vor allem das unbekannte Objekt untersuchen. Nach 24 Stunden hat eine Ratte jedoch normalerweise vergessen, welches Objekt sie bereits im ersten Durchgang untersucht hat, und wird daher beide Objekte gleichstark inspizieren. Die Gabe einer Substanz mit lern- und gedächtnisverbessernder Wirkung wird dazu führen, dass eine Ratte das bereits 24 Stunden vorher, im ersten Durchgang, gesehene Objekt als bekannt wiedererkennt. Sie wird das neue, unbekannte Objekt ausführlicher untersuchen als das bereits bekannte. Diese Gedächtnisleistung wird in einem Diskriminationsindex ausgedrückt. Ein Diskriminationsindex von Null bedeutet, dass die Ratte beide Objekte, das alte und das neue, gleichlang untersucht; d.h. sie hat das alte Objekt nicht wiedererkannt und reagiert auf beide Objekte als wären sie unbekannt und neu. Ein Diskriminationsindex größer Null bedeutet, dass die Ratte das neue Objekt länger inspiziert als das alte; d.h. die Ratte hat das alte Objekt wiedererkannt.

Die Effekte von Beispiel 1 auf die Objekt-Wiedererkennung von Ratten 24 Stunden nach dem ersten Durchgang wurden untersucht. Die Tiere erhielten oral Tylose alleine, oder Beispiel 1 in den Dosierungen 0,3, 1,0 oder 3,0 mg/kg Körpergewicht, suspendiert in Tylose, unmittelbar im Anschluss an den ersten Durchgang mit zwei identischen Objekten. Jeweils 24 Stunden später folgte der zweite Durchgang. Nach einer Auswaschperiode von 2 oder 3 Tagen wurde in denselben Ratten eine neue Dosierung von Beispiel 1 getestet, bis die Gedächtnisleistung aller Ratten zweimal in allen Dosierungen erfasst worden war. Alle Tiere dienten also als eigene Kontrolle. Die Resultate dieser Studie sind in Fig. 2 wiedergegeben. Überraschenderweise war die Gedächtnisleistung im zweiten Durchgang nach Behandlung mit 0,3 und

1,0 mg/kg von Beispiel 1 gegenüber der Kontrollbedingung (Behandlung mit Tylose alleine) verbessert. Der Diskriminationsindex war größer als Null und wich von dem in der Kontrollbedingung erreichten Diskriminationsindex ab.

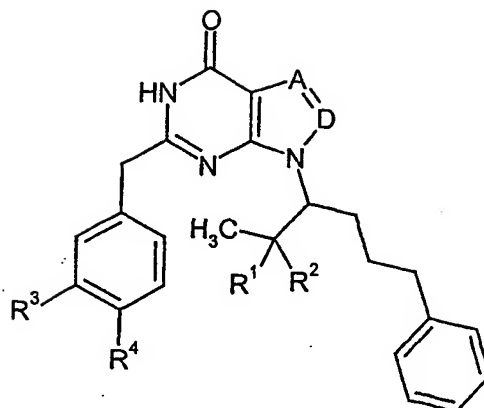
5 Die Ergebnisse dieses Tests sind in Fig.2 dargestellt:

FIG. 2: Wirkung von Beispiel 1 auf den Diskriminationsindex (d2) im Objekt-Wiedererkennungstest (Durchschnittswerte + S.E.M). Vehikel Behandlung war mit 1% Tylose. Die mit Substanz behandelten Tiere wurden mit 0,3 mg/kg, 1mg/kg bzw.
10 3mg/kg behandelt. Statistische Auswertung: $**P < 0.01$.

Patentansprüche

1. Verwendung von selektiven PDE 2-Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung und/oder Gedächtnisleistung.
2. Verwendung nach Anspruch 1 zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Störungen der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung und/oder Gedächtnisleistung.
3. Verwendung nach Anspruch 2, wobei die Störung eine Folge von Demenz ist.
4. Verwendung nach Anspruch 2, wobei die Störung eine Folge von Schlaganfall oder Schädel-Hirn-Trauma ist.
5. Verwendung nach Anspruch 2, wobei die Störung eine Folge der Alzheimerschen Krankheit ist.
6. Verwendung nach Anspruch 2, wobei die Störung eine Folge der Parkinsonschen Krankheit ist.
7. Verwendung nach Anspruch 2, wobei die Störung eine Folge von Depression ist.
8. Verwendung nach Anspruch 2, wobei die Störung eine Folge der Demenz mit Frontallappendegeneration ist.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei der selektive PDE 2-Inhibitor eine Verbindung der allgemeinen Formel (I),

- 15 -



in welcher

5 A=D für N=N, N=CH oder CR⁵=N steht, worin R⁵ Wasserstoff, Methyl, Ethyl oder Methoxy bedeutet,

R¹ und R² zusammen mit dem angrenzenden Kohlenstoffatom für Hydroxymethylen oder Carbonyl stehen, und

10 R³ und R⁴ unabhängig voneinander für Methyl, Ethyl, Methoxy, Ethoxy oder einen Rest der Formel SO₂NR⁶R⁷ stehen,

worin

15 R⁶ und R⁷ unabhängig voneinander Wasserstoff, (C₁-C₆)-Alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkyl bedeuten, oder

20 R⁶ und R⁷ zusammen mit dem benachbarten Stickstoffatom einen Azetidin-1-yl-, Pyrrol-1-yl-, Piperid-1-yl-, Azepin-1-yl, 4-Methyl-piperazin-1-yl- oder Morpholin-1-yl-Rest bilden,

ist, oder eines ihrer Salze.

Fig.1

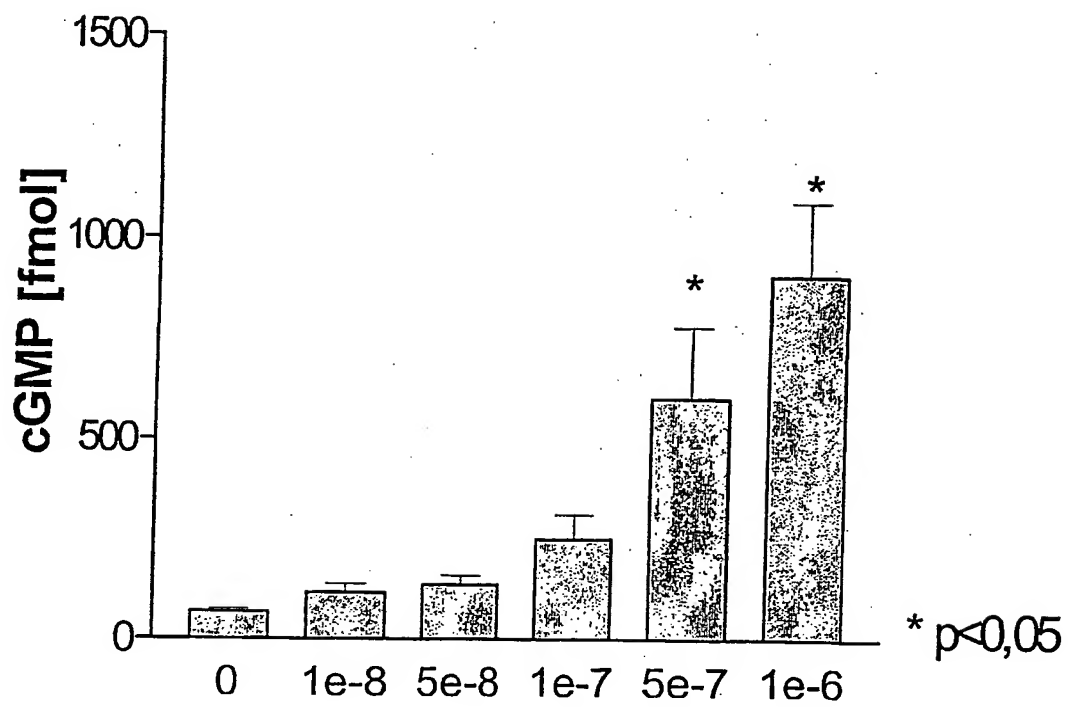
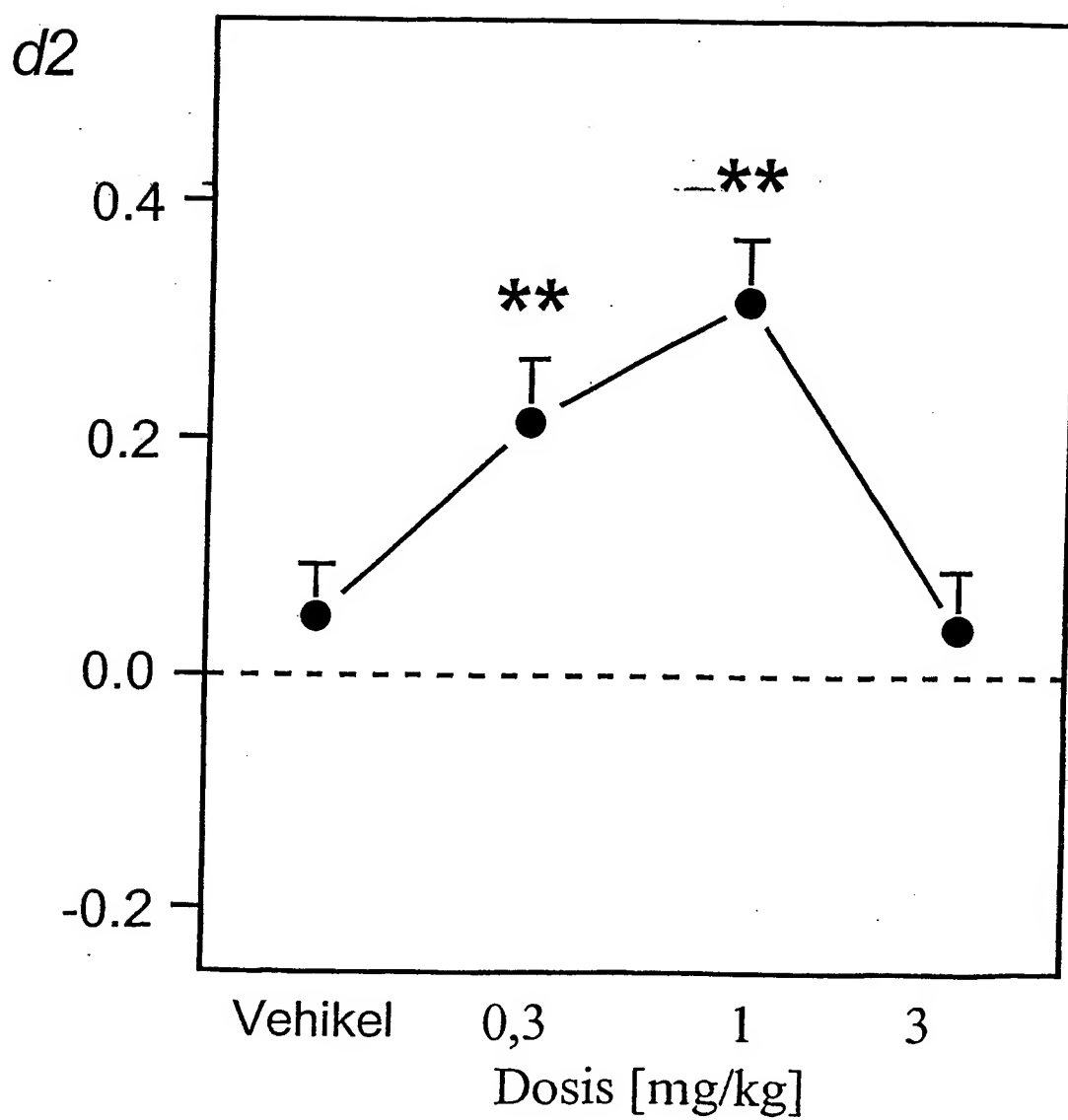


Fig.2



(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
7. Februar 2002 (07.02.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer

WO 02/009713 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 31/505,
A61P 25/28, 9/10, 25/24, 25/16, A61K 31/52

15 a. 53797 Lohmar (DE). SCHAUSS, Dagmar [DE/DE];
Stackenbergstr. 15, 42329 Wuppertal (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/08609

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER AKTIENGE-
SELLSCHAFT; 51368 Leverkusen (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
19. Juli 2001 (19.07.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 37 411.5 1. August 2000 (01.08.2000) DE
101 22 893.7 11. Mai 2001 (11.05.2001) DE

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ,
LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN,
MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,
SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU,
ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US*): BAYER AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE];
51368 Leverkusen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): BÖSS, Frank-Ger-
hard [DE/DE]; Auf dem Scheidt 29 f, 42115 Wuppertal
(DE). HENDRIX, Martin [DE/DE]; Wolfskaul 8, 51061
Köln (DE). KÖNIG, Gerhard [DE/DE]; Burgmüllerstr.
47, 40235 Düsseldorf (DE). NIEWÖHNER, Ulrich
[DE/DE]; Gartenstr. 3, 42929 Wermelskirchen (DE).
SCHLEMMER, Karl-Heinz [DE/DE]; Wildsteig 22a,
42113 Wuppertal (DE). SCHREIBER, Rudy [DE/DE];
Am Beethovenpark 34, 50935 Köln (DE). VAN DER
STAAY, Franz-Josef [DE/DE]; Matthias-Claudius-Weg

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen

Recherchenberichts:

18. Juli 2002

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

WO 02/009713 A3

(54) Title: SELECTIVE PDE 2 INHIBITORS, USED AS MEDICAMENTS FOR IMPROVING COGNITION

(54) Bezeichnung: SELEKTIVE PDE 2-INHIBITOREN ALS ARZNEIMITTEL ZUR VERBESSERUNG DER WAHRNEH-
MUNG

(57) Abstract: The invention relates to the use of selective phosphodiesterase 2, (PDE 2), inhibitors for producing medicaments to
improve cognition, powers of concentration, learning capability and/or memory retention.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von selektiven Phosphodiesterase 2 (PDE 2) -Inhibitoren zur Her-
stellung von Arzneimitteln zur Verbesserung von Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung und/oder Gedächtnisleistung.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 01/08609

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/505 A61P25/28 A61P9/10 A61P25/24 A61P25/16
A61K31/52

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 24745 A (PFIZER) 4 May 2000 (2000-05-04) claims 1,13,14 page 38, line 18-23 ---	1-3,5
X	EP 0 771 799 A (BAYER) 7 May 1997 (1997-05-07) cited in the application claims 1-5 page 13, line 23-36 ---	1,9
X	WO 00 12504 A (BAYER) 9 March 2000 (2000-03-09) cited in the application claims 1-4 page 19, line 15-20 page 20, line 4 ---	1,9

-/-

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 April 2002

Date of mailing of the international search report

03/05/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Peeters, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 01/08609

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 01 47928 A (BAYER) 5 July 2001 (2001-07-05) claims 1,7,8,11,14,18 page 1, line 23-27 page 21, line 20-26 ----	1-3,5
P,X	WO 01 47934 A (BAYER) 5 July 2001 (2001-07-05) claims 1,7,8,11,14,18 page 1, line 15-19 page 16, line 21-26 ----	1-3,5
P,X	WO 01 47929 A (BAYER) 5 July 2001 (2001-07-05) claims 1,7,8,11,14,15,18 page 1, line 18-22 page 23, line 24-29 -----	1-3,5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter. Appl. No.

PCT/EP 01/08609

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0024745	A	04-05-2000	AU 5995699 A BR 9915532 A EP 1123296 A1 WO 0024745 A1 US 6333330 B1 BR 9905877 A EP 0995750 A1 JP 2000128883 A	15-05-2000 14-08-2001 16-08-2001 04-05-2000 25-12-2001 12-09-2000 26-04-2000 09-05-2000
EP 771799	A	07-05-1997	DE 19541264 A1 AU 720305 B2 AU 7053296 A BR 9605434 A CA 2189401 A1 CZ 9603250 A3 EE 9600172 A EP 0771799 A1 HU 9603071 A2 JP 9124648 A NO 964667 A NZ 299683 A PL 316816 A1 SG 64953 A1 SK 142596 A3 TR 970424 A2 US 5861396 A ZA 9609278 A	07-05-1997 25-05-2000 15-05-1997 04-08-1998 07-05-1997 11-06-1997 16-06-1997 07-05-1997 28-05-1997 13-05-1997 07-05-1997 24-09-1998 12-05-1997 25-05-1999 07-05-1997 21-05-1997 19-01-1999 02-06-1997
WO 0012504	A	09-03-2000	DE 19838705 A1 AU 5516399 A WO 0012504 A2 EP 1107968 A2	02-03-2000 21-03-2000 09-03-2000 20-06-2001
WO 0147928	A	05-07-2001	DE 19962928 A1 DE 10003323 A1 AU 2842001 A WO 0147928 A2	28-06-2001 02-08-2001 09-07-2001 05-07-2001
WO 0147934	A	05-07-2001	DE 19962925 A1 DE 10003287 A1 AU 2365001 A WO 0147934 A1	28-06-2001 02-08-2001 09-07-2001 05-07-2001
WO 0147929	A	05-07-2001	DE 19962927 A1 DE 10003296 A1 AU 2841801 A WO 0147929 A1	28-06-2001 02-08-2001 09-07-2001 05-07-2001

PCT/EP 01/08609

IPK 7 A61K31/505 A61P25/28 A61P9/10 A61P25/24 A61P25/16

IPK 7 A61K

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE

-/-

Peeters, J

INTERNATIONA' "R RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/08609

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	WO 01 47928 A (BAYER) 5. Juli 2001 (2001-07-05) Ansprüche 1,7,8,11,14,18 Seite 1, Zeile 23-27 Seite 21, Zeile 20-26	1-3,5
P,X	WO 01 47934 A (BAYER) 5. Juli 2001 (2001-07-05) Ansprüche 1,7,8,11,14,18 Seite 1, Zeile 15-19 Seite 16, Zeile 21-26	1-3,5
P,X	WO 01 47929 A (BAYER) 5. Juli 2001 (2001-07-05) Ansprüche 1,7,8,11,14,15,18 Seite 1, Zeile 18-22 Seite 23, Zeile 24-29	1-3,5

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/08609

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0024745 A	04-05-2000	AU 5995699 A BR 9915532 A EP 1123296 A1 WO 0024745 A1 US 6333330 B1 BR 9905877 A EP 0995750 A1 JP 2000128883 A	15-05-2000 14-08-2001 16-08-2001 04-05-2000 25-12-2001 12-09-2000 26-04-2000 09-05-2000
EP 771799 A	07-05-1997	DE 19541264 A1 AU 720305 B2 AU 7053296 A BR 9605434 A CA 2189401 A1 CZ 9603250 A3 EE 9600172 A EP 0771799 A1 HU 9603071 A2 JP 9124648 A NO 964667 A NZ 299683 A PL 316816 A1 SG 64953 A1 SK 142596 A3 TR 970424 A2 US 5861396 A ZA 9609278 A	07-05-1997 25-05-2000 15-05-1997 04-08-1998 07-05-1997 11-06-1997 16-06-1997 07-05-1997 28-05-1997 13-05-1997 07-05-1997 24-09-1998 12-05-1997 25-05-1999 07-05-1997 21-05-1997 19-01-1999 02-06-1997
WO 0012504 A	09-03-2000	DE 19838705 A1 AU 5516399 A WO 0012504 A2 EP 1107968 A2	02-03-2000 21-03-2000 09-03-2000 20-06-2001
WO 0147928 A	05-07-2001	DE 19962928 A1 DE 10003323 A1 AU 2842001 A WO 0147928 A2	28-06-2001 02-08-2001 09-07-2001 05-07-2001
WO 0147934 A	05-07-2001	DE 19962925 A1 DE 10003287 A1 AU 2365001 A WO 0147934 A1	28-06-2001 02-08-2001 09-07-2001 05-07-2001
WO 0147929 A	05-07-2001	DE 19962927 A1 DE 10003296 A1 AU 2841801 A WO 0147929 A1	28-06-2001 02-08-2001 09-07-2001 05-07-2001